Aus der Kinderklinik und Poliklinik der Freien Universität Berlin
(Kaiserin-Auguste-Viktoria-Haus)
Direktor: Professor Dr. med. Adalbert Loeschke

UNTERSUCHUNGEN ZUM VERHALTEN DES FETALEN HÄMOGLOBINS BEI NEUGEBORENEN

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Jürgen Jürgens
aus Berlin

1961

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546527_0085

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN

Aus der Kinderklinik und Poliklinik der Freien Universität
Berlin (Kaiserin-Auguste-Victoria-Haus)
Direktor: Professor Dr. med. Adalbert L o e s c h k e

UNTERSUCHUNGEN ZUM VERHALTEN DES FETALEN HÄMOGLOBINS BEI NEUGEBORENEN

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Jürgen J ü r g e n s
aus Berlin

Dekan : Professor Dr. med. Alfred N. Witt
Referent : Professor Dr. med. Heinrich Wiesener
Korreferent: Professor Dr. med. Georg Hörmann

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 3. November 1966

Inhaltsverzeichnis

		Seite
I.	Einleitung	1
II.	Eigene Untersuchungen	18
	Methodik	18
	Untersuchungen über das Verhalten des fetalen Hämoglobins bei gesunden Neugeborenen	31
III.	Diskussion der Ergebnisse	37
IV.	Zusammenfassung	42
V.	Literaturangaben	43

Einleitung

Im Jahre 1852 konnten FUNKE (42,43,44) und KUNDE (73) Unterschiede im Blutfarbstoff verschiedener Tierspecies nachweisen. Diese Feststellung machten sie nach eigenen Kristallisationsversuchen. Vierzehn Jahre später - im Jahre 1866 - wies KÖRBER (60) nach, daß sich der Blutfarbstoff verschiedener Tierarten unterschiedlich rasch durch Essigsäure und Alkali denaturieren ließ. Die Methode von KÖRBER (60) wurde 1888 von KRÜGER (61) ausgebaut. Sein Schüler WAKULENKO (106) entdeckte 1910 ein unterschiedliches Verhalten des Blutfarbstoffes im Nabelvenenblut und im Erwachsenenblut. Er stellte eine erhöhte Alkaliresistenz des Nabelvenenblutes gegenüber Natronlauge fest. Nach den im Jahre 1925 von BISCHOFF (21) durchgeführten Versuchen ergab sich eine 155fach höhere Resistenz des Neugeborenenblutfarbstoffes gegenüber dem Erwachsenenblutfarbstoff. Diese Differenz zwischen fetalem und bleibendem Blutfarbstoff konnten JONXIS (52), HAUROWITZ (50), TROUGHT (104) und WUNDT (112) bestätigen. In jüngster Zeit konnten DRESCHER und KÜNZER (38,70) aufgrund ihrer spektro-photometrischen Untersuchungen am Blutfarbstoff menschlicher Feten nachweisen, daß neben dem Erwachsenenhämoglobin HbA (= adult) und dem fetalen Hämaglobin HbF im Nabelvenenblut bereits während der Embryonalperiode ein dritter Hämoglobintyp HbP (= primitiv) auftritt. Unabhängig von DRESCHER und KUNZER stellten auch HALBRECHT und KLIBANSKI (48) diesen Hämoglobintyp fest.

Bevor auf die einzelnen Varianten des Blutfarbstoffes eingegangen wird, soll zum besseren Verständnis eine kurze Schilderung der Entwicklungsphysiologie der Blutbildung gegeben werden. In der Entwicklung des Keimlings treten schon im Alter von etwa 12 Tagen Blutinseln auf, sogenannte Blutgefäßanlagen, die zunächst außerhalb der Keimanlage, und zwar im Mesenchym des Dottersackes und des Bauchstieles sowie im angrenzenden Mesenchym des Chorion gebildet werden. Am Ende des ersten Monats treten sie dann auch im Bereich des Keimschildes selbst auf, im Kopfmesenchym, im Herzen und in großen Gefäßstämmen (KNOLL, 59). Aus diesen Blutinseln entwickeln sich die peripheren Zellen zu Gefäßendothelien, die zentralen zu den sogenannten Erythrocyten-Bildungszellen oder Blutstammzellen. Die ersten Blutinseln bilden sich also zu Hohlräumen um, in die Flüssigkeit und Blutkörperchen abgegeben werden. In der weiteren Entwicklung nehmen sie durch Fortsätze miteinander Verbindung auf und bilden auf diese Weise Blutgefäße. Schließlich vereinigen sich die extra- und intraembryonalen Gefäße zu einem primitiven Blutkreislauf, der schon bei Keimlingen von 2,5 mm Länge ausgebildet ist. Die Vermehrung der kernhaltigen, zunächst noch Hb-freien Bildungszellen geschieht teils durch Mitose teils durch Neubildung von Blutinseln bzw. durch Teilung der Endothelzellen. Durch Bildung von Hämoglobin in den Bildungszellen werden diese zu primitiven Erythroblasten. Diese embryonalen, kernhaltigen roten Blutzellen, wegen ihrer ovalen Form und ihrer abnormen Größe auch Megaloblasten genannt, haben einen Zelldurchmesser von durchschnittlich 16 - 18 µ. Ihre Kerne sind feinkörnig strukturiert mit bereits orthochromatischem Plasma. Ihre Lebensdauer beträgt mindestens 30, höchstens 80

Tage. Mit zunehmender Reife werden die Kerne dicht und pyknotisch und liegen exzentrisch. Kernlose Erythrocyten findet man nur in geringer Zahl, meist weniger als 5 % der Erythroblasten (MUNDORFF, 84). Mit Beginn des dritten Embryonalmonats werden die primitiven Erythroblasten durch sekundäre Erythroblasten bzw. Erythrocyten ersetzt, die aber bereits aus den Blutbildungszentren der Leber und Milz stammen. Die erste Phase, in der die primitiven Erythroblasten aus dem Mesenchym gebildet werden, bezeichnen wir als mesenchymale oder megaloblastische Blutbildungsperiode.

Im dritten Embryonalmonat übernimmt dann das Mesenchym der Leber die Hämatopoese. Die Blutbildungsstätten der Leber sind diffus über das Organ ausgebreitet. Im histologischen Präparat eines drei Monate alten Feten erkennt man zwischen den Zellen der Leberanlage dichte Infiltrationen von Erythroblasten (MAXIMOW, 82). Im Gegensatz zu den Verhältnissen bei der ersten Blutbildungsperiode bleiben diese Zellen, solange sie noch kernhaltig sind, in ihrem Muttergewebe. Erst nach Ausstoßung des Kernes aus dem Zellkörper werden sie als Normocyten oder Erythrocyten in die freie Blutbahn ausgeschwemmt. Das Blutbild zeigt jetzt ein anderes Aussehen. Es überwiegen weitgehend die kernlosen Erythrocyten. Am Ende des dritten Embryonalmonats ist die Zahl der kernhaltigen Zellen auf weniger als 5 % abgesunken (MUNDORFF, 84). In geringem Maße ist auch während dieser Periode die Milz als Blutbildungsorgan tätig, weshalb man auch von einer hepato-lienalen Blutbildungsperiode spricht.

Die dritte Periode, die myeloische Blutbildung, beginnt mit dem fünften Embryonalmonat. Zur gleichen Zeit nimmt die Tätigkeit der Blutbildungszentren in der Leber ab. Allerdings kann man

die Leberhämatopoese noch über die Geburt hinaus verfolgen (LANGLEY, (74), FOWLER (41), W. THOENES (103)). Nach autoptischen Befunden von LANGLEY (74) stieg die Leberhämatopoese nach der Geburt wieder etwas an, nach 8 Tagen konnte sie nicht mehr nachgewiesen werden. Nach der Geburt ist nur noch das Knochenmark als Blutbildungsorgan tätig. Die Blutzellen, die das Knochenmark während des ganzen extrauterinen Lebens produziert, sind morphologisch nicht von den Zellen der Leberhämatopoese zu unterscheiden (KNOLL (59), WARNINGHOFF (110) u. HAUSMANN). Bei Säuglingen ist das Knochenmark sämtlicher platter Knochen und Röhrenknochen an der Blutbildung beteiligt (BLACKFAN and DIAMOND (23). Mit zunehmendem Alter wird ein großer Teil des funktionstüchtigen Knochenmarkes durch Fettmark ersetzt. Doch in den Wirbelkörpern, im Sternum und in den Rippen bleibt zeitlebens blutbildendes Knochenmark erhalten. Bei starken Regenerationsreizen ist aber der Organismus befähigt, auch das ruhende Knochenmark wieder zur Hämatopoese heranzuziehen. Besonders bei Säuglingen und jüngeren Kindern kann sie in extramedullären Blutbildungszentren der Leber und Milz wieder auftreten.

Schon in der mesenchymalen Blutbildungsperiode treten alle normalen Hämoglobintypen auf, das embryonale, das fetale und das Erwachsenen-Hämoglobin. Das embryonale HbP konnten DRESCHER u. KÜNZER (38) sowie HALBRECHT u. KLIBANSKI (48) bei Feten unter 12 Wochen neben dem fetalen Hämoglobin nachweisen. Die ersten Spuren von Erwachsenen-Hämoglobin traten nach 12 Wochen im Fetalblut auf (WALKER and TURNBULL (107/108)). Im 5. Ebryonalmonat zeigte sich bei Untersuchungen an zwei Keimlingen nach BEAVEN u. Mitarbeiter (4) ein Prozentsatz von 6,5 - 6,9 HbA im Fetalblut. Die Trennung von HbF und HbA wurde elektropho-

retisch durchgeführt. Gleichzeitig fanden ROCHE u. Mitarbeiter (91) mit anderer Methodik - Salzfällung - einen Erwachsenenhämoglobingehalt von 10 %. Dieser Prozentsatz bleibt bis zur 33. bis 34. Woche erhalten. Danach setzt ein rasches Ansteigen des HbA-Gehaltes ein, so daß wir bei der Geburt um 20 - 40 % HbA finden (HAUROWITZ (50), PONDER a. LEVINE (88), ZEISEL (114), BETKE (12), JONXIS (52), ROCHE u. Mitarbeiter (91), NATZSCHKA (85), BERLINER (6)).

Für die postnatale Periode ist nach den Ergebnissen von BETKE (12), BISCHOFF (22), KLEINKNECHT (58), GREINACHER u. Mitarbeiter (45), NATZSCHKA (85) folgender Ablauf zu verzeichnen. Nach einem langsamen Absinken während der ersten 2 bis 3 Wochen - zurückzuführen auf eine über die Geburt hinaus bestehende Bildung von HbF - läßt sich zeigen, daß der Betrag von HbF danach rasch abnimmt, und zwar beträgt die wöchentliche Elimination zwischen der 3. und 14. Woche etwa 5 % des fetalen Hb am Gesamthämoglobin. Nach der 14. Woche klingt der Abfall von HbF asymptotisch aus. In der 16. bis 20. Woche sind 10 % HbF festzustellen. Nach 5 bis 6 Monaten wird, sieht man von geringen Anteilen ab, praktisch bei den meisten Kindern kein HbF mehr gefunden. Nach CHERNOFF and SINGER (29) fanden sich allerdings mit anderer Methodik im 2. Lebenshalbjahr bei 19 von 25 Kindern noch HbF-Anteile von 2,7 bis 27 % des Gesamtblutfarbstoffes. Darüber hinaus sind noch bei einzelnen Kindern im Alter von 2 bis 4 Jahren geringe Spuren fetalen Hämoglobins bis zu einer oberen Grenze von 2 % gefunden worden. Auch bei Erwachsenen ließen sich Spuren bis zu 0,5 % nachweisen. Auf die Methodik dieser Untersuchung wird an anderer Stelle eingegangen (CHERNOFF and SINGER (29), CHOREMIS u. Mitar-

beiter (32)). ZILLESEN (116) fand mit der Fällungsmethode von KÜNZER über Cyanhämiglobin für das 2. bis 4. Lebensjahr folgende Werte: bei zweijährigen Kindern 2,8 % HbF, bei dreijährigen 1,7 %, bei vierjährigen 1,3 %, bei fünfjährigen 1,2 % und im Alter von 6 Jahren 1, 1 % HbF.

Frühgeborene zeigen im Gegensatz zu Reifgeborenen einen langsameren Abbau des fetalen Hämoglobins. Schon bei der Geburt liegt der Prozentsatz des fetalen Hb höher als bei Reifgeborenen (10, 12). BISCHOFF (21, 22) und JONXIS (52) nahmen an, daß der Abbau des fetalen Hämoglobins der Frühgeborenen um die Zeit später beginnt, um die das Kind zu früh geboren wird. ZEISEL (114) ist zwar der Meinung, daß der Abbau des fetalen Hb bei Frühgeborenen ebenso verläuft wie bei Reifgeborenen. Er erklärt das Nachhinken im Abbau durch den großen HbF-Prozentsatz bei der Geburt Frühgeborener. KLEINKNECHT (58) vermittelt diese beiden extremen Standpunkte. Neuere Untersuchungen von K. NATZSCHKA (85) und BERLINER (6) bestätigen jedoch die eingangs erwähnte Vorstellung von BISCHOFF (22) und JONXIS (52). Diese Tatsachen sind in der Abbildung 1 zusammengefaßt.

Auch über das sogenannte embryonale Hämoglobin gelang es, neue Erkenntnisse zu sammeln. Nach DRESCHER u. KÜNZER (38) wurde für den HbP-Typ bei Feten unter 12 Wochen eine Empfindlichkeit gegenüber Alkali festgestellt, die in der Mitte zwischen HbA und HbF liegt. Für diesen Hämoglobintyp wiesen HALBRECHT u. KLIBANSKI (48) eine langsamere elektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeit (pH = 8,6) nach. Weitere eingehendere Untersuchungen besonders über die Eingeschaften des HbP, stehen noch aus.

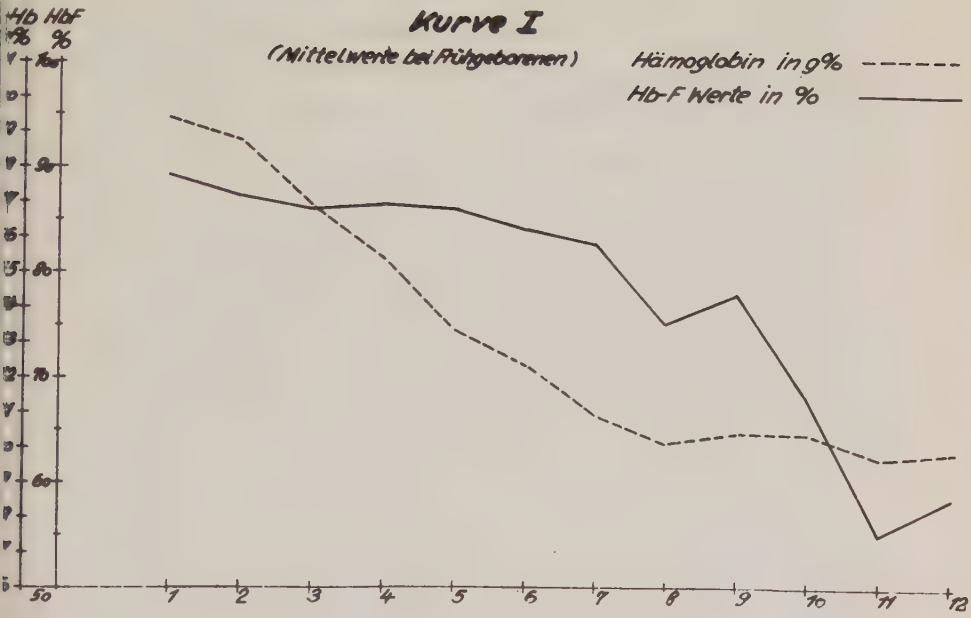

Abbildung 1

Es läge nahe, aus den bisher über den Entwicklungsablauf der drei Hb-Typen vorliegenden Untersuchungen den Schluß zu ziehen, daß jedes der Hämoglobine einer Blutbildungsperiode zuzuordnen sei: das HbP der mesoblastischen, das HbF der hepatischen und das HbA der myeloischen Periode. Jedoch zeigt sich, daß schon vom 4. Fetalmonat an, also bereits vor Beginn der myeloischen Hämatopoese, ein Betrag von 10 % HbA gefunden wurde (ROCHE (92)). Auf der anderen Seite findet man

z.B. bei der Cooley-Anämie älterer Kinder und Erwachsener einen HbF-Gehalt von über 90 % (RICH (89), ZANNOS (118)). Schließlich läßt sich bei anderen Erkrankungen mit wieder auftretenden extramedullären Blutbildungszentren kein fetales Hb nachweisen (ROCHE et DERRIEN (92)). Daraus geht hervor, daß eine topographische Zuordnung der einzelnen Hb-Typen zu ihren Blutbildungsstätten nicht möglich ist (14, 15) .

Von grundlegender Bedeutung für alle folgenden Forschungsarbeiten auf dem Gebiet des Hämoglobins waren die Ergebnisse der Tierversuche von v. KRÜGER (61) im Jahre 1925, aus denen hervorging, daß von den beiden Komponenten des Hämoglobins, nämlich dem Häm und dem Globin, bei den verschiedenen Tierarten nur das Globin Unterschiede zeigte, während die prosthetische Gruppe, das Häm, identisch war. Die Versuche, durchgeführt von HAUROWITZ (50) und ROCHE (91) am Hämoglobin des Menschen, konnten die Ergebnisse von KRÜGER bestätigen. Prüfungen der prosthetischen Gruppe zeigten keine Abweichungen des fetalen Hb gegenüber dem HbA. Eine Identität erwies sich in bezug auf die O_2- Kapazität (BUTTERFIELD (27), PETERS (87) und NICLOUX (86)),den Eisengehalt (MASING (81), VALER (105)), die Hämine (HAUROWITZ (50)) und auf den sichtbaren Spektralbereich (BUTTERFIELD (27), CHARNASS (28)). Alle Methoden, die den Eiweißgehalt des Blutfarbstoffes prüften, zeigten unterschiedliches Verhalten von HbF und HbA. Hier soll auf die physikalisch-chemischen wie serologischen Eigenschaften beider Hämoglobine kurz eingegangen werden (Monographie von BETKE (12)). Der Neugeborenenblutfarbstoff löst sich bei gleicher Salzkonzentration leichter als das Erwachsenenhämoglobin (ROCHE et DERRIEN (91)). Die Ausbreitungsgeschwindigkeit

monomolekularer Filme ist nach BRINKMAN a. JONXIS (25) beim fetalen Hämoglobin bedeutend langsamer als beim bleibenden Blutfarbstoff. Bei der Papierchromatographie wird nach SANSONE et CUSMANO (95) das fetale Hämoglobin stärker an Aluminiumhydroxyd adsorbiert als das HbA. Die Elektrophoresediagramme von RICH (89) zeigen, daß das fetale Hämoglobin anodisch rascher wandert. Mittels der Spektralphotometrie konnten BEAVEN u. Mitarbeiter (4), JOPE (56) und RICH (89) einen geringen, aber dennoch charakteristischen Unterschied zwischen den beiden Hämoglobintypen feststellen. Die sogenannte Tryptophanbande liegt bei 291 μ, während sie beim HbF weiter zum kurzwelligen Bereich, nämlich bei 289,8 μ lag. Untersuchungen mit der Wärmedenaturierung haben gezeigt, daß das fetale HbO_2 durch Hitze nicht nur leichter zu denaturieren ist, sondern auch leichter koaguliert (BETKE u. GREINACHER (17)). Ferner hat CHERNOFF (30/31) ein sehr genaues serologisches Verfahren ausgearbeitet, um geringste Mengen von HbF zu erfassen. Er erweiterte die Untersuchungen von DARROW und Mitarbeiter (36) und konnte zeigen, daß auch das fetale Hämoglobin neben dem Blutfarbstoff normaler Erwachsener und dem Blutfarbstoff aus Nabelschnurvenenblut in der Lage ist, ein immunologisch spezifisches Antiserum zu erzeugen. Bei der Untersuchung des Blutes von 100 gesunden Erwachsenen auf den HbF-Gehalt ergab sich folgendes Bild: In 30 Fällen wurden weniger als 0, 03 % HbF, in 59 Fällen weniger als 0,05 % HbF und in 40 Fällen zwischen 0,05 und 0,5 % ermittelt. Nur bei einer Person zeigten sich HbF-Mengen um 1 %. Auch in der Kristallstruktur ergaben sich Differenzen zwischen den beiden Hämoglobintypen (JOPE and O'BRIEN (56)). Außerdem läßt sich eine viel höhere Alkali-

stabilität beim HbF nachweisen. Schon KÖRBER (60) stellte eine 100-fach höhere Resistenz des HbF gegenüber Natronlauge fest. SINGER u. Mitarbeiter (97/97) haben aus diesen Erkenntnissen heraus eine allgemein anerkannte Methode entwickelt.

Weitere Untersuchungen zeigen, daß der fetale Hb-Typ durch Kaliumferricyanid und Nitrite rund doppelt so schnell zu Hämiglobin (Methämoglobin) oxydiert wird wie der Erwachsenen-Blutfarbstoff (BETKE (16), MELCOP (83)). Die gesteigerte Oxydierbarkeit des fetalen Hämoglobins - durch seinen geringeren Gehalt an freien Sulfhydrylgruppen gegenüber dem HbA - und die verminderte Aktivität des zellulären enzymatischen Prozesses, der Methämoglobin reduziert, bedingen das häufigere Auftreten von Methämoglobinämien bei jungen Säuglingen als bei älteren Kindern und Erwachsenen. BETKE (16) konnte in vitro belegen, daß das den Wasserstoff übertragende Ferment, ein Flavinenzym - die Diaphorase - vermindert ist. Als wichtige Methämoglobinbildner wären zu nennen: anilinhaltige Stempelfarben für Windeln (DRUCKREY u. LINNEWEH (39), RITTER (90)), nitrathaltiges Brunnenwasser, das man für Milchmischungen verwandte (COMLEY (33), CHOREMIS (32)) und der Aufenthalt in Räumen mit nitrobenzolhaltigen Dämpfen durch frische Farbanstriche oder durch Bohnerwachs (MARTISCHNIG u. THALHAMMER (80), ROHRBACH (94)).

Bei der Darstellung der verschiedenen Eigenschaften des fetalen und Erwachsenen-Hämoglobins ergibt sich die Frage, wie die einzelnen Blutfarbstoffe auf die Erythrocyten verteilt sind. Nimmt man bei Neugeborenen einen HbF-Gehalt von 60 % und einen HbA-Gehalt von 40 % an, so zeigt sich folgende Möglichkeit:

60 % aller Erythrocyten enthalten nur HbF, die restlichen 40 % nur HbA. Danach hätte man streng zwei Populationen zu unterscheiden: "fetale" und "Erwachsenen"-Erythrocyten. Im Gegensatz hierzu finden sich nach einer zweiten Annahme die Hämoglobintypen HbA und HbF in einem Verhältnis von 40 : 60 auf alle Erythrocyten gleichmässig verteilt. Diesen Verteilungstyp weisen die Erythrocyten bei den Trägern der Sichelzellanlage auf. Im Blute der Erkrankten lassen sich 40 - 45 % Sichelzellhämoglobin (HbS) neben HbA nachweisen, und zwar zeigen alle Erythrocyten das an den abnormen Hb-Typ geknüpfte Sichelzellphänomen (15, 100). Die dritte Möglichkeit ergibt ein Verteilungsbild, in dem einerseits Zellen vorhanden sind, die nur HbF bzw. HbA besitzen und andererseits solche, in denen die beiden Hämoglobine in verschiedenen Mischungsverhältnissen vertreten sind. Der letzte Verteilungstyp wurde durch die Versuche von BETKE, KLEIHAUER u. BRAUN in Zusammenarbeit bestätigt (14,15,18,57). Sie entwickelten eine Methode zur Trennung von HbF und HbA in den Erythrocyten. In fixierten Blutausstrichen eluierten sie durch Behandlung mit Zitronensäure-Phosphatpuffer (pH 3,4) bei 37° C das HbA aus den Erythrocyten, während das HbF unverändert darin enthalten blieb. Die elektronenoptische Aufnahme des Blutausstriches eines 10 Wochen alten Säuglings läßt deutlich erkennen, daß neben Erythrocyten, die nur HbA bzw. HbF besitzen, auch Zellen vorhanden sind, die beide Hämoglobine in verschiedenen Mischungsverhältnissen enthalten. Nach den Erläuterungen kann man die Schlußfolgerung ziehen, daß im Blut des Neugeborenen und jungen Säuglings keine scharfe Trennung zwischen "fetalen" und "Erwachsenen"-Erythrocyten besteht.

Die Neugeborenenperiode wird im allgemeinen definiert als der Zeitraum von der vollendeten Geburt bis zum Abfall des mumifizierten Nabelschnurrestes. Dies nimmt etwa 9 bis 10 Lebenstage in Anspruch. Bei dieser rein willkürlichen zeitlichen Festlegung wird man den wahren Vorgängen nicht gerecht, da in dieser relativ kurzen Zeitspanne die Umstellung des Neugeborenen auf das extrauterine Leben noch nicht vollständig abgeschlossen ist. Es ist daher unseres Erachtens richtiger, die Neugeborenenperiode für die ersten 3 bis 4 Lebenswochen gelten zu lassen.

Mit der Geburt beginnt für das gesunde Neugeborene durch Änderung der Lebensbedingungen die Anpassung an das extrauterine Leben. Anstelle der Sauerstoffversorgung des fetalen Blutes durch die Placenta übernimmt jetzt die Lunge die Arterialisierung des Blutes. Durch wechselnde Außentemperaturen wird der kindliche Organismus zur selbständigen Wärmeregulierung gezwungen. Nach 24stündiger Erholungspause beginnt mit dem Einsetzen der Nahrungsaufnahme die Tätigkeit des Magen-Darmtraktes, d.h. die Verdauung und Resorption. Desgleichen werden das Pfortadersystem und die Leber erster größerer Belastung ausgesetzt. Auch die Nieren übernehmen ihre Stoffwechselfunktion. Während dieser Anpassungsperiode zeigen sich weitere wesentliche Veränderungen beim Neugeborenen. Durch das Mißverhältnis zwischen der Abgabe von Mekonium, Harn und vor allem Wasser durch die perspiratio insensibilis und der relativ geringen Nahrungsaufnahme entsteht eine physiologische Gewichtsabnahme post partum, die 3 % bis 10 %, im Durchschnitt 6,8 % beträgt. In der Regel ist das Gewichtsminimum am 3. bis 4. Tag erreicht. Die darauf folgende Gewichtszunahme beträgt durch-

schnittlich täglich 25 bis 30 g. Gleichzeitig kann mit dem 2. bis 4. Lebenstag die sogenannte transitorische Hyperthermie (Durstfieber) einsetzen, bei der Rectaltemperaturen von 39° bis 40° C vorkommen.

Die Ursache für den in die gleiche Zeit fallenden physiologischen Icterus neonatorum liegt in der Unreife der Leberfunktion beim Neugeborenen (BILLING (20), COLE and LATHE (20), DUTTON (40)). Der Neugeborenenleber fehlt weitgehend die Fähigkeit , das aus der Blutmauserung anfallende nicht harnfähige freie Bilirubin (indirektes Bilirubin) in ausscheidungsfähiges Bilirubin - Glucuronid (direktes Bilirubin) umzuwandeln. Unter normalen Bedingungen wird das freie Bilirubin auf fermentativem Wege durch die Glucuronsäuretransferase an Glucuronsäure gekoppelt. Das Bilirubin - Glucuronid ist gut wasserlöslich und somit harnfähig (LATHE (75), SCHMID (96), TALAFANT (102)). Im Nabelschnurvenenblut steigen die normalen Bilirubinwerte von 2 mg% auf 4 - 5 mg% im Neugeborenenblut an. Das Auftreten des Hauticterus beim Neugeborenen ist abhängig einmal von dem Prozentsatz des Bilirubins im Blut andererseits aber auch von der Durchlässigkeit der Hautkapillaren. Daraus resultiert, daß nur bei 30 bis 40 % Neugeborener ein deutlicher Hauticterus sichtbar wird. Manifest wird der Icterus mit dem 2. bis 3. Tag post partum und verschwindet gegen Ende der ersten Lebenswoche. Es leuchtet ein, daß die Insuffizienz der Leberfunktion bei Frühgeborenen stärker ausgeprägt ist, der Icterus häufiger auftritt und daß die Bilirubinwerte gegenüber Neugeborenen bis auf 12-13 mg% im Blut ansteigen können.

Auch im Blutbild zeigen sich unter der Geburt und in der Neugeborenenperiode wesentliche Veränderungen. Neben einer deut-

lichen Anisocytose und Makrocytose ist in den ersten 12 Lebensstunden ein rasches Ansteigen der Erythrocytenzahlen und der Gesamthämoglobinwerte zu beobachten. Es steigen die Werte von etwa 4,5 Mill. Erythrocyten und 16,0 g% Hb im Nabelschnurvenenblut nach 12 Stunden auf etwa 5,5 Mill. Erythrocyten und 19,5 g% Hb pro mm^3 an. Während der ersten Lebenstage bleiben diese Werte annähernd erhalten, am Ende der ersten Woche beginnen sie wieder abzusinken (BETKE (15)).

Der hohe Erythrocytengehalt des Neugeborenenblutes bei der Geburt und die mangelhafte Sauerstoffsättigung des Fetalblutes führten zu der Annahme, daß der Fetus ähnlichen Bedingungen unterworfen ist wie die zum Beispiel unter chronischem Sauerstoffmangel lebenden Bewohner der Anden. Neuere Untersuchungen zeigten, daß normalerweise der Fetus weder unter Sauerstoffmangel leidet noch eine Polyglobulie besitzt (BARCROFT (3)). Sie entsteht erst nach der Geburt. Die Polyglobulie Neugeborener wird neuerdings auf die sogenannte placentare Transfusion, d.h. auf ein Nachströmen des Blutes von der Placenta in das Kind zurückgeführt. Durch Gewichtsbestimmungen in zeitlichen Abständen und durch vergleichende Blutvolumenbestimmungen mit Evansblau (HASELHORST u. ALLMELING (49), GUNTHER (47), DE MARSH u. Mitarbeiter (78)) wurde festgestellt, daß die übertragene Blutmenge im Durchschnitt rund 100 ml beträgt. Es zeigte sich, daß bereits 1 Minute nach der völligen Entwicklung des Kindes die Hälfte und nach 10 Minuten 90 % des Blutes übergeströmt sind. Die auf das Kind übertragene Blutmenge richtet sich nach der Zeit bis zur Abnabelung, nach dem allgemeinen Verhalten und der Lagerung des Kindes (GUNTHER (47)). Durch die placentare Transfusion wird

Neugeborenenblut plethorisch. Dieses Blutvolumen wird dadurch reduziert, daß in wenigen Stunden Plasma die Gefäßbahn verläßt (DE MARSH u. Mitarbeiter (79)). Diese Plasmareduktion bedingt wieder einen Erythrocytenanstieg, so daß aus der Plethora eine Polyglobulie wird.

Zur Darstellung und quantitativen Bestimmung des fetalen Hb im Gesamtblutfarbstoff haben sich folgende Nachweismethoden besonders bewährt. Die serologische Methode nach CHERNOFF (30,31) zur Erfassung geringster Mengen von HbF nach Gewinnung von Antiseren. Die von JOPE (56), BEAVEN (5) und RICH (89) entwickelte Methode , die auf einer einwandfrei meßbaren Differenz im Ultraviolettspektrum von bleibendem und fetalem Hb basiert. In der Hand französischer Autoren erlangte die fraktionierte Salzfällung größere praktische Bedeutung (ROCHE et DERRIEN (91)). Von überragender Bedeutung ist die Bestimmung des fetalen Hb mittels der Alkalidenaturierung (K. SINGER, CHERNOFF and L. SINGER (97)). Sie beruht auf der hohen Alkalistabilität des HbF, die bereits KÖRBER (60) beobachtet hatte.

Es werden heute zwei grundsätzlich verschiedene Nachweismethoden zur quantitativen Bestimmung des fetalen Hb verwandt, die mit der Alkalidenaturierung durchgeführt werden: eine optische Methode und eine Fällungsmethode.

D i e o p t i s c h e M e t h o d e - im Jahre 1935 von BRINKMAN and JONXIS (24) entwickelt - mißt spektrophotometrisch den Farbumschlag der Hämoglobinlösung nach Laugenzusatz. Die sich hieraus ergebenden Extinktionsveränderungen werden über einen gewissen Zeitraum verfolgt. Die Zunahme des Denaturierungsproduktes bzw. der Abfall des noch nicht veränderten

Blutfarbstoffes werden errechnet. Dagegen wird mit der F ä l l u n g s m e t h o d e der Prozeß der Alkalidenaturierung in bestimmten Zeitabständen durch Neutralisation unterbrochen, und das denaturierte Produkt durch 1/3 Sättigung mit Ammonsulfat ausgefällt. Der durch Filtration gewonnene unveränderte Blutfarbstoff wird spektrophotometrisch gemessen (K. SINGER, CHERNOFF and L. SINGER (97,98)). In beiden Methoden, der optischen und der Fällungsmethode, werden die HbF-Prozente in HbO_2-Lösungen bestimmt. In seiner im Jahre 1957 veröffentlichten Arbeit zeigte KÜNZER (69), daß es wesentliche methodische Vorteile erbringt, wenn man speziell bei der Fällungsmethode anstelle von HbO_2-Lösungen mit den stabileren Cyanhämiglobinlösungen arbeitet. In Paralleluntersuchungen wurden in HbO_2-Lösungen und Cyanhämiglobinlösungen die HbF-Anteile am Gesamtblutfarbstoff über alle Bereiche jeweils mit der optischen Methode und der Fällungsmethode bestimmt. Es zeigte sich, daß bei der optischen Methode sich die HbO_2- und Cyanhämiglobinlösungen sehr ähnlich verhalten. Sehr gute Resultate werden erzielt, wenn HbF mehr als 10 % des Gesamt-Hb beträgt. Liegen die HbF-Anteile unter 6 %, so sind Messungen mittels der optischen Methode auf einer Wellenlänge von 650/u zu ungenau. Auch bei Messungen im grünen Wellenbereich lagen die ermittelten Werte für fetales Hämoglobin offensichtlich zu hoch. Die Bestimmung der HbF-Anteile über HbO_2 bzw. über Cyanhämiglobin mittels der Fällungsmethode zeigte keine übereinstimmenden Resultate. Bei der Verwendung von HbO_2-Lösungen lagen die Werte um etwa 5 % zu niedrig, wenn der HbF-Anteil am Gesamt-Hb über 30 % lag. HbF-Mengen, die am Gesamthämoglobin weniger als 3 % betrugen, ließen sich nicht mehr

bestimmen. JONXIS and HUISMAN (55) können diese Resultate bestätigen. Dagegen wurden mit Cyanhämiglobinlösungen sehr gute Ergebnisse erzielt. Hohe, mittlere und selbst kleinste HbF-Mengen unter 1 % konnten sehr genau bestimmt werden. KÜNZER (69) gibt für diese Methode einen Grenzwert von 0,5 % fetalen Hämoglobins an (64,67,69).

Bei der Überführung des HbO_2 in Cyanhämiglobin wird zuerst aller Farbstoff durch Kaliumferricyanid zu Hämiglobin oxydiert und dann sofort das Hämiglobin durch Kaliumcyanid in Cyanhämiglobin umgewandelt. Die Verwendung von Cyanhämiglobin statt HbO_2 hat den großen Vorzug, daß der gesamte Farbstoff nur in einer Zustandsform vorliegt und somit Fehler vermieden werden, die eventuell durch Entstehen störender Abbauprodukte des Hämoglobins auftreten könnten. Als Derivat des roten Blutfarbstoffes enthält das Cyanhämiglobin 3-wertiges Eisen, das mit der 3. Valenz die Cyangruppe bindet (19,64). Schon im Jahre 1901 wies v. ZEYNEK (115) darauf hin, daß die Cyangruppe im Cyanhämiglobin sehr fest gebunden ist. Ein Vacuum oder anhaltendes Durchleiten indifferenter Gase, selbst bei gleichzeitigem Erwärmen auf 40° C, vermögen die Cyangruppe nicht abzuspalten. Auch Cyanhämiglobinlösungen, die tagelang bei Zimmertemperatur der Luft ausgesetzt waren, zeigten keinerlei Veränderungen (v. ZEYNEK (115)).

In der Neugeborenenperiode wurden hinsichtlich des Verhaltens des fetalen Hämoglobins stark voneinander abweichende Untersuchungsergebnisse erzielt. In der Arbeit von DELORY, ISRAELS and WHITE (37) kommt ein sehr unterschiedliches Verhalten des fetalen Hämoglobins zum Ausdruck. Die Forscher be-

obachteten neben einer abfallenden und gleichbleibenden Tendenz sogar ein Ansteigen des fetalen Hämoglobins in den ersten Tagen post partum. Dagegen zeigten die Ergebnisse von NATZSCHKA (85), DRESCHER und KÜNZER (38) gemeinsam einen Abfall der HbF-Prozente nach der Geburt. Auf Grund dieser Diskrepanz der Untersuchungsergebnisse soll in der vorliegenden Arbeit mit einer exakten Methodik das Verhalten des fetalen Hämoglobins geprüft werden.

II. Eigene Untersuchungen

Methodik

Bei allen von uns durchgeführten Versuchen zur Bestimmung des fetalen Hämoglobins wandten wir die von KÜNZER (67) angegebene Fällungsmethode über Cyanhämiglobin an.

Nabelschnurvenenblut (1,2 ml), mit Natriumcitrat (0,8 ml) ungerinnbar gemacht, wird 3mal jeweils für 5 Minuten durch Zentrifugieren mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Danach werden die Erythrocyten in den Zentrifugenröhrchen - mit Korken gut verschlossen - mit einer kleinen Menge Aqua dest. (1,5 ml) versetzt und durch 24-stündiges Einfrieren (Tiefkühltruhe) und Auftauen hämolysiert. Anschließend wird zur Abtrennung der Stromata 30 Minuten hochtourig bei 3000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert und die klare Blutfarbstofflösung dekantiert. Die Umwandlung des Blutfarbstoffes in Cyanhämiglobin erfolgte durch Zugabe mit etwa dem gleichen Volumen einer Trans-

formationslösung zum Hämolysat (1 g Kaliumferricyanid + 1 g Kaliumcyanid auf 100 ml Aqua dest.- Zugabe mittels einer Sicherheitspipette, Fortunabürette!). Nach mindestens 20 Minuten wird nach der Methode von BETKE u. SAVELSBERG (19) die Hämoglobinkonzentration dieser Cyanhämiglobinlösung bestimmt und durch Zugabe der errechneten Aqua dest. Menge auf eine Konzentration von 1,0 g/100 ml eingestellt. Dieses Ergebnis wird jedesmal überprüft.

Kleine Reagenzgläser, die mit 1,2 ml n/12 NaOH beschickt werden, kommen in ein Wasserbad von 20° C. Mit einer Vollpipette werden jeweils 0,5 ml der 1 g%igen Cyanhämiglobinlösung in die Natronlauge ausgeblasen; die Pipette wird sofort durch zweimaliges schnelles Wiederaufziehen nachgespült und gleichzeitig eine Stoppuhr in Gang gesetzt (für jeden Versuch eine neue Pipette). Nach den für den Versuch vorher festgelegten Denaturierungszeiten (1 - 30 Minuten) wird die Reaktion jeweils mit 3,2 ml einer halbgesättigten Ammonsulfatlösung (eiskalt) unterbrochen, die eine zur Neutralisation erforderliche Menge an HCL enthält und zwar auf 800 ml 2 ml 10 n HCL. Gutes Durchmischen durch dreimaliges Umkehren des Reagenzglases. Nach dem Filtrieren (Selecta-Faltenfilter Nr. 588) wird die Extinktion des Filtrats bei 544 /u am Beckman-Spektralphotometer (Mod. DU) gegen den Leerwert gemessen (3,2 ml Ammonsulfat + 1,6 ml n/12 NaOH). Die Extinktionswerte (E_1.....n) werden als Logarithmen abgelesen und prozentual auf die Ausgangswertextinktion (AE) bezogen. Der Ausgangswert (0,5 ml des 1 g%igen Hämolysats + 4,4 ml Aqua dest.) wird filtriert und die Extinktion des Filtrats gegen einen Leerwert aus Aqua dest. gemessen. Bei graphischer

Auftragung der Logarithmen der Prozentzahlen für noch nicht denaturierten Blutfarbstoff gegen die Zeit entstehen Kurven, die nach kurzem bogenförmigen Verlauf in Geraden ausmünden. Durch Extrapolation der Geraden nach Null wird der O-Minutenwert erhalten.

Ein Beispiel zur Bestimmung des fetalen Hämaglobins (in % des Gesamt-Hb) nach der modifizierten Fällungsmethode von KÜNZER (67).

Mit dem Beckman-Photometer ermittelte Extinktionswerte: a) für die Ausgangslösung (AE), b) für die Filtrate nach der Denaturierung (E_1.....n)

AE	0,751
	0,748
	0,742
Mittelwert	0,747

E (Min)	% undenat. Hb errechnet	log% undenat. Hb	O-Wert log	gefundener HbF-Gehalt in %
1	0,535	71,6	1,855	1,845	69,9
1	0,534	71,5	1,854		
2	0,506	67,8	1,831		
3	0,488	65,4	1,816		
3	0,490	56,6	1,817		
5	0,447	60,1	1,779		
7,5	0,401	53,7	1,730		
10	0,369	49,4	1,694		
15	0,309	41,4	1,617		
20	0,258	34,6	1,539		
25	0,219	29,4	1,468		
30	0,186	24,9	1,396		

Berechnung:

$$\frac{0{,}535\ (E_1 \ldots n)\ .\ 100}{0{,}747\ (\text{Mittelwert AE})} = 71{,}6\ (\%\ \text{undenat.HbF})$$

Die Logarithmen der Prozentzahlen für das undenaturierte fetale Hämoglobin werden graphisch gegen die entsprechende Denaturierungszeit aufgetragen. Durch Extrapolation der Geraden nach Null wird der O-Min-Wert erhalten (Abbildung 2). In diesem Fall beträgt der O-Min-Wert 1,845; daraus ergibt sich ein Wert von 69,9 % HbF.

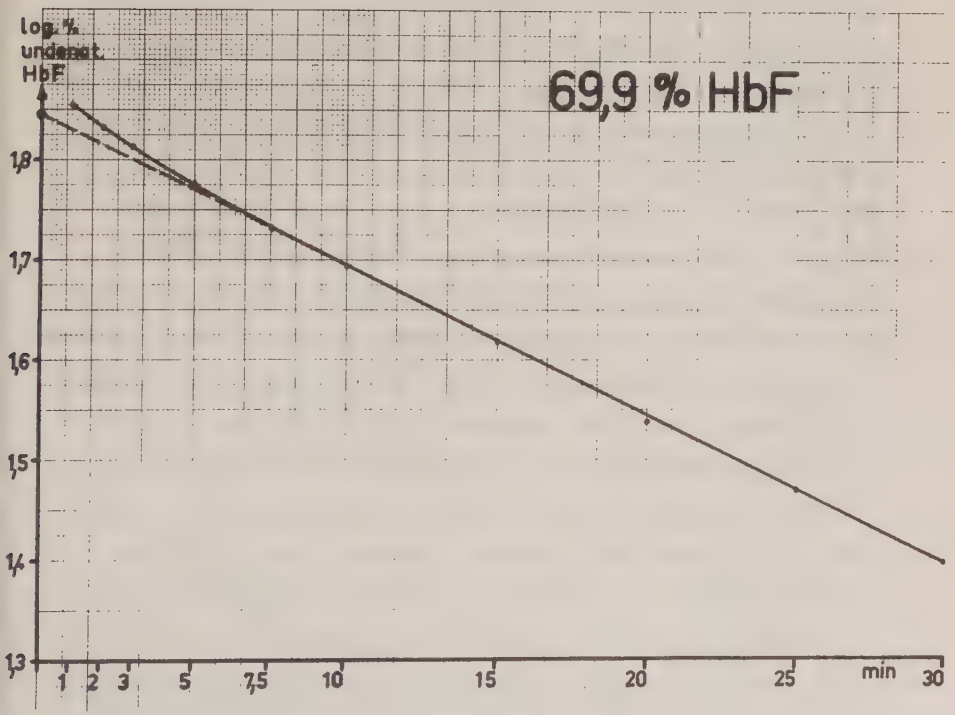

Abbildung 2

Bevor wir das fetale Hämoglobin nach der angegebenen Arbeitsvorschrift bestimmten, wurde die Genauigkeit der Methode in der Bestimmung hoher HbF-Prozente geprüft. In Anlehnung an die Methode von CHERNOFF (30) stellten wir uns aus Nabelschnurvenenblut eine reine, von Erwachsenenhämoglobin freie, HbF-Lösung her.

Nabelschnurvenenblut (30 ml) wird mit Natriumcitrat ungerinnbar gemacht. Die Erythrocyten werden 3mal jeweils für 5 Minuten mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und durch Zufügen von 1 Vol. Aqua dest. + 0,4 Vol. Toluol hämolysiert. Zur vollständigen Denaturierung des Erwachsenenhämoglobins wird das Neugeborenenhämolysat mit n/12 NaOH für 2 Minuten bei 20° C versetzt. Die Reaktion wird durch Zufügen einer gesättigten Ammonsulfatlösung unterbrochen, die zur Neutralisation der Lauge 0,95 ml konzentrierte HCl auf 100 ml Salzlösung enthielt. Das entstandene Denaturierungsprodukt wurde ausgefällt und durch Filtration der noch unveränderte Blutfarbstoff gewonnen. Das Mischungsverhältnis war: 2 Vol. Hämolysat zu 12 Vol. n/12 NaOH zu 6 Vol. ges. Ammonsulfatlösung. Zur Trennung der gereinigten HbF-Lösung von den Sulfationen wurde ein mit der Blutfarbstofflösung gefüllter Dialysierschlauch über 24 Std. bei 4° C in Aqua dest. belassen. Während dieser Zeit wurde das dest. Wasser in den ersten 16 Stunden alle 2 Stunden gewechselt.

Nach der Dialyse wird die gereinigte HbF-Lösung in der angegebenen Weise in Cyanhämiglobin überführt und auf 1,0 g% Hb eingestellt. Die Hb-Konzentration wird nach der Methode von BETKE u. SAVELSBERG (19,70) bestimmt.

4 ml einer Transformationslösung (0,2 g Kaliumferricyanid in etwa 500 ml Aquadest. gelöst. Zugabe von 0,2 g Kaliumcyanid und Auffüllen auf 1000 ml Aqua dest. - in dunklen Flaschen aufbewahren) werden mittels einer geeichten Vollpipette in kleine, mit Korken gut verschließbare, Glasröhrchen gefüllt. 0,02 ml Blut werden mit einer Sahli-Hb-Pipette entnommen, in die Lösung ausgeblasen - nach dem Originalverfahren werden 0,038 ml Blut mit einer Blutzuckerpipette entnommen - und sofort gut durchmischt.

Berechnung der Hb-Konzentration in g% :

16 X Extinktion (E) = g% Hb bei einer Blutentnahme von 0,038 ml. Nimmt man aber statt 0,038 ml 0,02 ml Blut für die Untersuchung, so muß man noch mit einem Faktor von 1,9 multiplizieren:

$$\frac{16 \times 1{,}9}{30{,}4} \times E = g\%\ Hb$$

Die Messungen der Hb-Konzentration wurden von BETKE u.SAVELSBERG mit dem Stufenphotometer bei Filter S 53 (Photometerlampe) in 1,0 cm Schichtdicke gegen Aqua dest. ausgeführt. Für das Spektralphotometer (BECKMAN) ermittelten wir durch Paralleluntersuchungen mit dem Stufenphotometer (PULFRICH) einen Faktor von 1,82.

$$\frac{16 \times 1{,}82}{29{,}1} \times E = g\%\ Hb$$

Die auf dem BECKMAN-Spektralphotometer abgelesenen Extinktionen mit dem Faktor 29,1 multipliziert ergeben die Hb-Konzentration in g%.

Anschließend wurde mit der Fällungsmethode nach KÜNZER (67) der HbF-Gehalt dieser reinen Blutfarbstofflösung geprüft .

Siehe Tabelle I. Aus der reinen 1 g%igen HbF-Lösung und einer 1 g%igen HbA-Lösung werden Testansätze bereitet, bei denen die HbF- und HbA-Prozente in einem Verhältnis von 95 : 5, 90 : 10, 85 : 15, 80 : 20, 70 : 30 und 60 : 40 vorhanden waren. Testansätze mit einem HbF-Gehalt von 50 % und weniger wurden nicht bereitet, da bei Neugeborenen kein niedrigeres HbF zu erwarten war. Es wurde geprüft, inwieweit die vorgelegten HbF-Prozente in den Testlösungen mit den HbF-Prozenten übereinstimmten, die wir anschließend über die Fällungsmethode ermittelten. Drei Beispiele geben eine Übersicht. Wir haben die Testansätze dreier HbF-HbA-Gemische ausgewählt.

Abbildung III	95 % HbF	5 % HbA
Abbildung IV	80 % HbF	20 % HbA
Abbildung V	60 % HbF	40 % HbA

Tabelle I

Extinktion der Ausgangslösung (AE) : 0,568

E (Min)	HbF%	log% undenat. Hb	Log O-Wert	Gefundener HbF-Gehalt in %	Vorgelegter HbF-Gehalt in %
1 0, 562	98,91	1,995	1,200	100	100
1 0, 551	97,0	987			
1 0, 559	98,4	993			
2 0, 532	93,6	971			
2 0, 534	94,0	973			
3 0, 510	89,8	953			
3 0, 501	88,2	946			
5 0, 447	78,7	896			
10 0, 368	64,7	850			
15 0, 322	56,7	754			
20 0, 284	50,0	699			
30 0, 194	34,1	533			
40 0,1425	25,0	398			
50,0,108	19,0	279			
60 0,070	12,3	090			

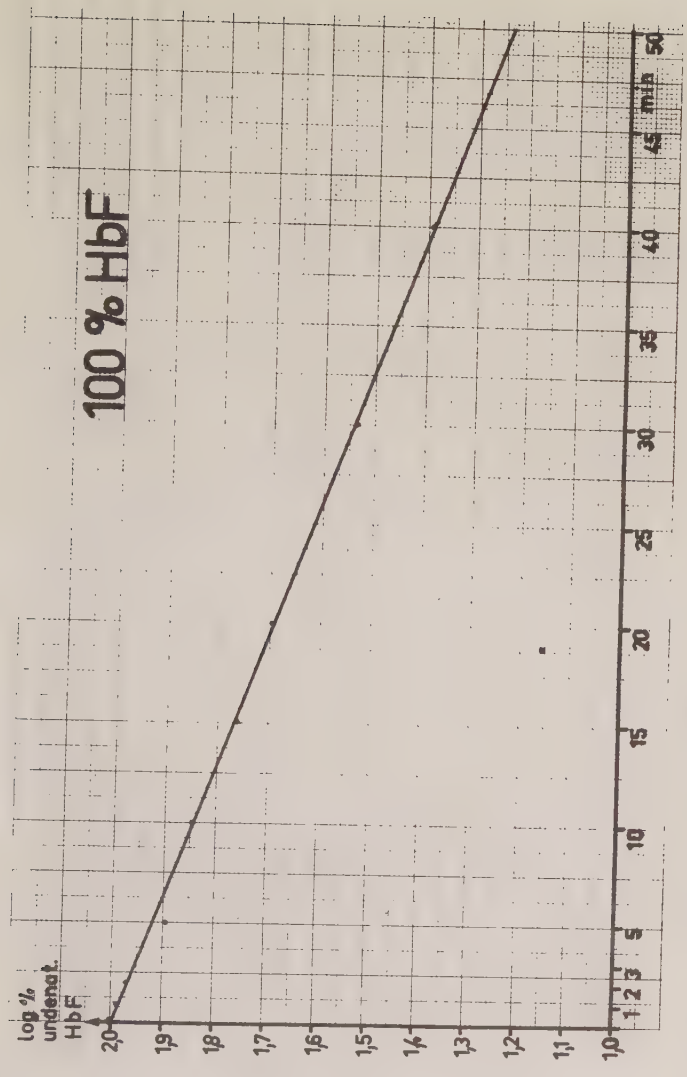
100 % HbF
log % undenat. HbF
2,0
1,9
1,8
1,7
1,6
1,5
1,4
1,3
1,2
1,1
1,0
1 2 3 5 10 15 20 25 30 35 40 45 min 50

Tabelle I

Abbildung III

Testansatz: 95 % HbF + 5 % HbA
Mit dem Beckman-Photometer ermittelte Extinktionswerte: a) für die Ausgangslösung (AE),
b) für die Filtrate nach der Denaturierung (E_1 ...n)
AE: 0,568

E (Min)	HbF%	log% unden-at.Hb	log O-Wert	HbF-Gehalt in % gefund.	vorgel.
1 0, 543	95,5	1,980	1,975	94,4	95
1 543	95,5	980			
2 530	93,3	970			
2 521	91,7	962			
3 494	86,97	939			
3 487	85,7	933			
5 453	79,95	903			
10 382	67,3	828			
15 319	56,2	750			
20 252	44,36	666			
30 184	32,4	511			
40 133	23,4	369			
50 096	16,9	227			

Abbildung IV

Testansatz: 80 % HbF + 20 % HbA
Mit dem Beckman-Photometer ermittelte Extinktionswerte: a) für die Ausgangslösung (AE),
b) für die Filtrate nach der Denaturierung (E_1...n)
AE: 0,568

E (Min)	HbF%	log% unden-at.Hb	log O-Wert	HbF-Gehalt in % gefund.	vorgel.
1 0, 460	80,9	1,908	1,895	78,5	80
1 453	79,5	900			
2 438	77,1	887			
3 418	73,5	866			
3 428	75,9	880			
5 378	66,5	823			
10 311	54,9	740			
15 472	47,9	680			
20 224	39,4	600			
30 162	28,5	450			
40 108	19,5	290			
50 0825	14,6	160			

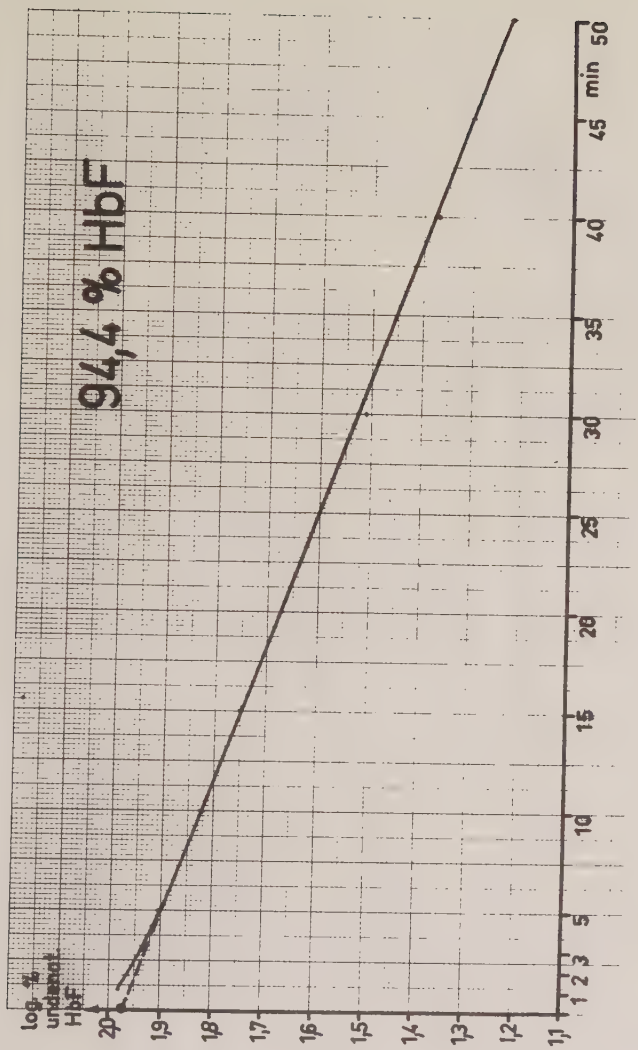

Abbildung III

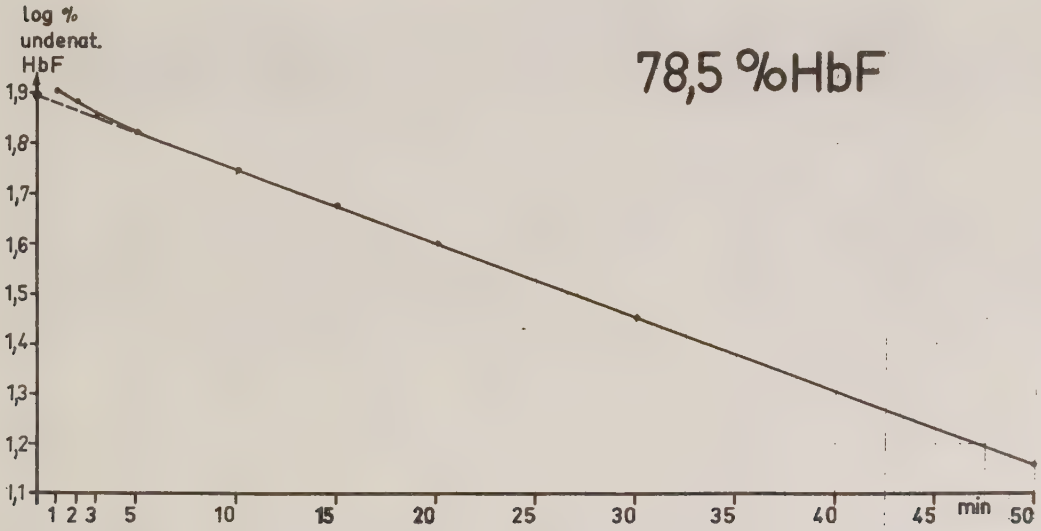

Abbildung IV

Abbildung V

Testansatz: 60 % HbF + 40 % HbA

Mit dem Beckman-Photometer ermittelte Extinktionswerte:

a) für die Ausgangslösung (AE)

b) für die Filtrate nach der Denaturierung (E_1.....n)

AE: 0568

E(Min)	HbF%	log% undenat. Hb.	log O-Wert	HbF-Gehalt in % gefunden	HbF-Gehalt in % vorgelegt
1	0,348 61,2	1,787	1,770	58,9	60
1	346 60,9	785			
2	3175 55,9	747			
2	328 57,7	761			
3	302 53,1	725			
3	322 56,6	753			
5	278 48,9	689			
10	236 41,5	618			
15	188 33,0	519			
20	160 28,2	450			
25	135 23,7	375			
30	111 19,55	291			
40	0753 12,9	111			
50	053 9,33	0,969			

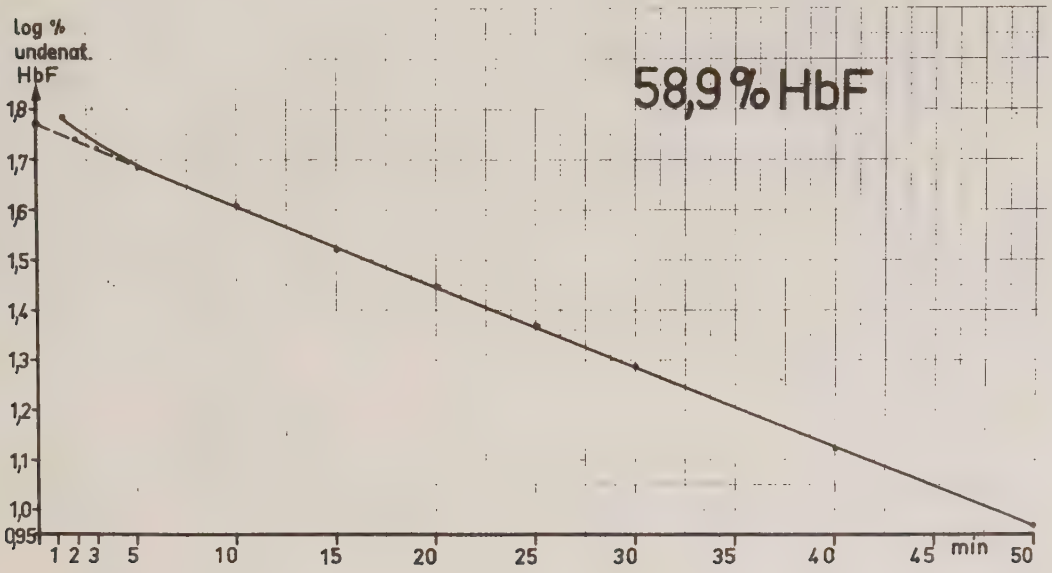
log %
undenat.
HbF
58,9 % HbF
1,8
1,7
1,6
1,5
1,4
1,3
1,2
1,1
1,0
0,95
1 2 3 5 10 15 20 25 30 35 40 45 min 50

Abbildung V

Eine Übersicht der Versuchsergebnisse zur Prüfung der modifizierten Fällungsmethode nach KÜNZER (69) vermittelt die nachstehende Tabelle.

Tabelle II

HbF-Gehalt der Testansätze in %	Mit der Fällungsmethode ermittelter HbF-Gehalt in %
100	100
95	94,4
90	89,1
85	84,1
80	78,5
70	68,6
60	58,9

Anhand dieser Ergebnisse zeigen wir, daß die vorgelegten HbF-Prozente in den Testlösungen mit den durch die Fällungsmethode ermittelten Werten nur um ein Geringes differieren. Somit können auch wir die von KÜNZER erzielten Resultate bestätigen (69).

Ergebnisse

An einem Untersuchungsgut von 13 gesunden Neugeborenen wurde geprüft, welchen Veränderungen das fetale Hämoglobin in den ersten 6 Tagen post partum unterworfen ist. Innernalb dieser Zeit wurden von jedem Kind vier Blutproben entnommen und zwar das Blut aus der Nabelvene und am 1., 3. und 6. Lebenstag aus der Kopfvene (1,2 ml Blut + 0,8 ml Natriumcitrat).

Die prozentualen HbF-Werte dieser Proben wurden mit der von KÜNZER (67) angegebenen modifizierten Fällungsmethode über Cyanhämiglobin bestimmt. Die Messung der Gesamthämoglobinkonzentration erfolgte spektrophotometrisch über Cyanhämiglobin mit dem Beckman-Photometer nach der Arbeitsvorschrift von BETKE u. SAVELSBERG (19). In der Tabelle III wurden unsere Untersuchungsergebnisse zusammengestellt.

Tabelle III

Die Hämoglobinkonzentrationen im Nabelschnurvenenblut und im Kopfvenenblut von ausgetragenen Neugeborenen

Fall-zahl	Name	Fetales Hämoglobin (% Gesamt-Hb) Nabelvenenblut	1.Tg. p.p.	3.Tg. p.p.	6.Tg. p.p.	Regr.koeff. (b)	Gesamthämoglobin (g%) 1.Tg. p.p.	3.Tg. p.p.	6.Tg. p.p.
1	B.J.	78,5	76,0	73,3	69,2	- 1,48	20,0	19,6	17,9
2	K.G.	69,9	65,3	63,8	59,5	- 1,54	21,0	21,0	19,4
3	O.B.	70,8	69,2	72,5	61,4	- 1,51	23,2	21,1	19,7
4	H.W.	69,2	67,6	63,1	- 5.Tg.	- 1,36	20,8	19,8	18,6
5	J.H.	58,2	56,9	56,9	54,3	- 0,57	19,7	18,6	18,7 5.Tg.
6	F.B.	52,0	49,0	48,6	- 7.Tg.	- 0,96	20,1	17,7	-
7	S.F.	74,8	60,9	60,3	57,4	- 2,25	19,5	18,4	16,5 7.Tg.
8	M.R.	66,1	65,7	63,8	62,8	- 0,57	20,5	21,6	21,6
9	Th.D.	63,1	-	63,8	63,1	+ 0,025	21,9	21,6	19,4
10	S.A.	66,9	63,1	62,7	61,7	- 0,71		nicht bestimmt	
11	G.J.	70,0	55,0	55,0	61,7	- 0,65		nicht bestimmt	
12	P.C.	74,8	74,8	75,1	-	+ 0,24		nicht bestimmt	
13	St.B.	63,1	50,1	53,1	50,1	- 1,88		nicht bestimmt	

Tabelle IV

	Durchschnittswerte d. HbF% ($\bar{y}$)	Mittlere Abweichung der Einzelwerte (δ)	Mittlere Abweichung d. Durchschnittswerte ($\delta_{\bar{y}}$)
Nabelvenenblut	67,5	6,58	$\pm$ 1,80
1. Tag p. partum	62,7	8,40	$\pm$ 2,40
3. Tag p. partum	62,5	7,62	$\pm$ 2,10
6. Tag p. partum	60,1	4,97	$\pm$ 1,57

Bei der Berechnung der o.a. Werte wurden folgende Formeln angewandt:

$$\bar{y} = \frac{\Sigma(y)}{N} \qquad \delta = \sqrt{\frac{\Sigma(y-\bar{y})^2}{N}} \qquad \delta_{\bar{y}} = \pm \frac{\delta}{\sqrt{N}}$$

Dabei bedeuten :

N = Anzahl der Einzelfälle
y = Einzelwert
$\bar{y}$ = Durchschnittswert
δ = Mittlere Abweichung des Einzelwertes
$\delta_{\bar{y}}$ = Mittlere Abweichung des Durchschnittswertes

Tabelle III zeigt das Verhalten des fetalen Hämoglobins in den ersten 6 Tagen postpartum. Im Nabelschnurvenenblut beträgt das HbF 67,5 % des Gesamthämoglobins (Schwankungsbreite 78,5 % bis 63,1 %). Die prozentualen Werte des fetalen Hämoglobins zeigen eine fallende Tendenz. Um diese rechnerisch exakt zu erfassen, wurde für jeden der 13 Fälle durch die (im allgemeinen 4) Beobachtungswerte des HbF-Anteils je eine Regressionsgerade gelegt. Die Regressionskoeffizienten, die jeweils den Tangens des Neigungswinkels der betreffenden Regressionsgeraden gegen die Abszissenachse bedeuten, sind in

Tabelle III angegeben. Diese Regressionskoeffizienten beziehen sich auf je einen Tag als Einheit der Zeit, d.h. der unabhängigen Variablen. Wie Tabelle III zeigt, bewegen sich diese Regressionskoeffizienten in der Spanne zwischen - 2,25 und + 0,24; ihr Durchschnitt beläuft sich auf - 1,03. Rechnet man für jeden Beobachtungstag den Durchschnitt der Beobachtungswerte und berechnet aus diesen vier Durchschnittswerten die Regressionsgleichung, so findet man als Regressionskoeffizienten einen Wert von - 1,01. Die Differenz zwischen den Ergebnissen beider Berechnungsarten beruht auf der verschiedenen Auswirkung der vier ausgefallenen Beobachtungen und ist wegen ihrer Winzigkeit völlig bedeutungslos.[1)]

In Tabelle IV sind für jede der vier Beobachtungsreihen für jeweils einen gleichen Zeitabstand von der Geburt zu den Durchschnittswerten der HbF-Anteile auch deren mittlere Abweichungen hinzugefügt und ferner - aus diesen letztgenannten mittels Division durch die Quadratwurzel aus der Zahl der Beobachtungen gewonnen - die mittleren Abweichungen der Durchschnittswerte.

In Abbildung VI sind die aus Tabelle IV entnommenen Durchschnittswerte für die vier betrachteten Zeitabstände von der Geburt eingezeichnet. Bei jedem dieser vier Werte ist die mittlere Abweichung des Durchschnitts und somit der Streuungsbereich gekennzeichnet, in dem der Wert, den man bei einer sehr großen Anzahl von Beobachtungen erhielte, mit einer Wahrscheinlichkeit von 68,3 % liegt. Ferner ist in diese Abbildung die Regressionsgerade eingezeichnet. Man sieht, daß dieselbe sich durchweg im Bereiche der einfachen mittleren Abweichung des

1) Die statistische Berechnung wurde nach Anleitung von Herrn Professor Dr. Dr. K. Freudenberg durchgeführt.

Durchschnitts vom Durchschnitt aus bewegt. Infolgedessen kann durch diese Beobachtungsergebnisse die Hypothese nicht widerlegt werden, daß innerhalb des betrachteten Altersbereiches - ungefähr der ersten Lebenswoche - der Anteil des fetalen Hämoglobins am Gesamthämoglobin linear abnehme. Andererseits aber deutet der Verlauf doch darauf hin, daß die besonders starke Abnahme während der ersten 24 Stunden, der dann ein weit flacherer Verlauf folgt, dennoch nicht durch den Zufall kleiner Zahlen bedingt, sondern reell sein könnte.
Betrachtet man den Abfall vom Zeitpunkt 0 bis zum Zeitpunkt 1 isoliert, so liefert die wahrscheinlichkeitstheoretische Betrachtung ein anderes Bild, wenn man nicht die Differenz der Durchschnitte zur Berechnungsbasis macht, sondern den Durchschnitt der Differenzen. Nimmt man die Differenzen zwischen Zeitpunkt 0 und Zeitpunkt 1 bei den einzelnen Fällen als Varianten und berechnet deren Streuung, dann findet man einen Durchschnitt der Veränderungen von - 5,0 (wieder in % des Gesamthämoglobins ausgedrückt) mit einer mittleren Abweichung der Verteilung von 5,19 und einer mittleren Abweichung des Durchschnitts von 1,50. Da gemäß dem Wahrscheinlichkeitsintegral 95,5 % aller zufallsmäßig streuenden Werte in dem Bereiche liegen, der vom Durchschnitt um nicht mehr als das Doppelte seiner mittleren Abweichung entfernt liegt, liegt also mit dieser Wahrscheinlichkeit der vom Zufall der Stichprobe befreite Wert zwischen - 2,0 und - 3,0. Bei dieser Betrachtungsweise würde es also als weitgehend signifikant erscheinen, daß der Abfall des HbF-Anteils in den ersten 24 Lebensstunden größer ist als im Durchschnitt der folgenden fünf Tage.

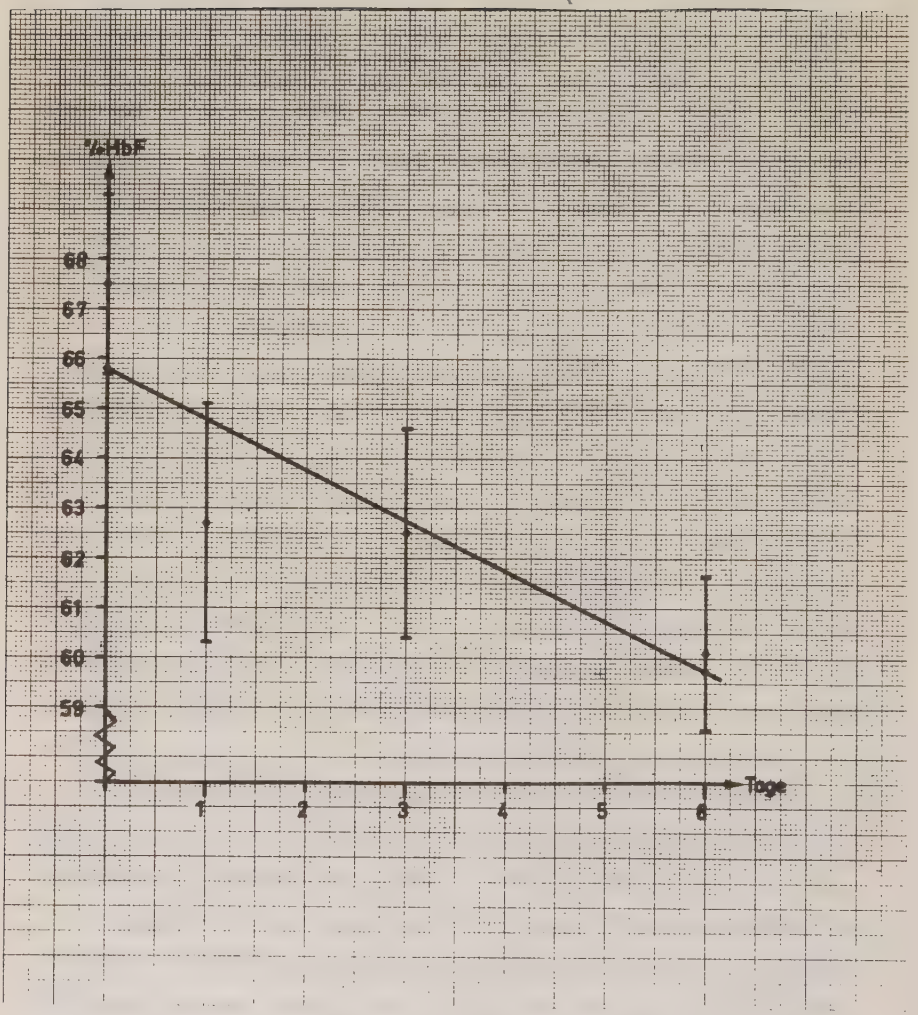

Abbildung VI

III. Diskussion der Ergebnisse

In der Neugeborenenperiode wurden hinsichtlich des Verhaltens des fetalen Hämoglobins stark voneinander abweichende Untersuchungsergebnisse erzielt. DELORY, ISRAELS u. WHITE (37) weisen in ihrer im Jahre 1950 veröffentlichten Arbeit darauf hin, daß die Durchschnittswerte der HbF-Prozente in den ersten Tagen post partum stark voneinander abweichen - das fetale Hämoglobin fiel in 32 % der Fälle ab, in 38 % blieb es auf gleicher Höhe, in je 15 % wurde sogar ein Anstieg bzw. ein anfänglicher Abfall mit darauffolgendem Anstieg beobachtet.
Nach den Angaben von NATZSCHKA (85) dagegen wird das HbF in den ersten 2 bis 3 Wochen verzögert eliminiert, erklärt aus Abbau und Neuproduktion des fetalen Hämoglobins nach der Geburt. JONXIS (53) beobachtete eine schnelle Eliminierung des HbF im Blut von Trimenon-Säuglingen. Auch DRESCHER u. KÜNZER (38) konnten einen erheblichen Abfall der HbF-Prozente nach der Geburt nachweisen, den sie als bevorzugten Abbau von fetalem Hämoglobin deuteten. Bereits in den ersten 12 Stunden sank das fetale Hämoglobin am Gesamthämoglobin um ca. 3 % (74,1 % : 70,9 % HbF) ab. Innerhalb von 6 Tagen post partum verminderten sich die prozentualen Werte des fetalen Blutfarbstoffes um etwa 10 % (74, 1 % : 64,0 % HbF) am Gesamthämoglobin. Unsere Blutuntersuchungen an gesunden Neugeborenen in den ersten 6 Tagen nach der Geburt bestätigen die Untersuchungsergebnisse von DRESCHER u. KÜNZER (38). Auch wir beobachteten einen deutlichen Abfall der HbF-Prozente um ca. 7 % (67,5 % : 60,1 % HbF) am Gesamthämoglobin in den ersten 6 Lebenstagen. Die Untersuchungser-

gebnisse zeigten ferner, daß der Abfall des HbF-Anteils am Gesamthämoglobin in den ersten 24 Stunden größer ist als im Durchschnitt der folgenden 5 Tage (67,5 % : 62,7 % HbF). Dieser Befund spricht gegen eine gradlinig einsetzende Elimination des fetalen Blutfarbstoffes nach der Geburt. Nach dem bisherigen Stande des Wissens kann die Angabe eines Grundes nur spekulativ sein.

Zur Frage der Neubildung des fetalen Hämoglobins für die Zeit nach der Geburt wurden sehr unterschiedliche Meinungen vertreten. JONXIS (52) und ZEISEL (114) vertraten die Ansicht, daß mit der Geburt die Bildung des fetalen Hämoglobins sofort sistiere. BAAR (1) machte im Jahre 1948 eine interessante Beobachtung bei einem Kind mit Rh-bedingter Erythroblastose. Nach einer Austauschtransfusion stieg der bis auf geringe Werte abgesunkene HbF-Prozentsatz nach 24 Stunden erneut auf 16,5 % HbF an. An Einzelfällen machten auch BETKE (12), GREINACHER (45) und JONXIS (54) diese Beobachtung. An einem größeren Krankengut konnte NATZSCHKA (85) das Wiederansteigen des fetalen Hämoglobins nach Austauschtransfusionen bei Kindern mit Rh-bedingter Erythroblastose direkt nachweisen. Somit besteht für die postfetale Bildung von fetalem Hämoglobin kein Zweifel mehr.

Bei erworbenen Blutkrankheiten wurde von mehreren Autoren das Vorkommen des fetalen Hämoglobins nicht nur bei Kindern, sondern auch bei Erwachsenen bestätigt (21, 31, 67, 117, 118).

SINGER, CHERNOFF u. SINGER (97, 98) konnten mit der Fällungs-

methode bei 18 von 118 Patienten, KÜNZER (67) mit der Cyanhämiglobin-Fällungsmethode bei 22 von 105 Patienten alkaliresistentes Hämoglobin nachweisen. NATZSCHKA (85) dagegen fand mit dem optischen Verfahren bei 39 von 44 erkrankten Kindern im Alter von 10 Monaten bis zu 15 Jahren noch fetales Hämoglobin. Auffallend ist die vorgenannte hohe Anzahl an Kindern mit nachweisbar erhöhten fetalen Hämoglobinwerten. Der Autor erklärt sie einmal durch eine besondere Auswahl der Krankheiten, zum anderen wurden ausschließlich erkrankte Kinder untersucht. Bei Patienten mit erworbenen Blutkrankheiten zeigen Kinder im Vergleich zu Erwachsenen immer einen höheren Prozentsatz an fetalem Hämoglobin. BEAVEN and WHITE (5) konnten dagegen bei ihren Untersuchungen nur bei einem Kind, erkrankt an einer Paramyeloblastenleukämie, fetalen Blutfarbstoff nachweisen. Nicht unberücksichtigt dürfen bei der großen Schwankungsbreite der Ergebnisse die verschiedenen Untersuchungsmethoden der einzelnen Forscher bleiben.

Bei den erworbenen Blutkrankheiten sind die erhöhten fetalen Hämoglobinwerte im Kindes- und Erwachsenenalter zu deuten als Aktivierung einer bleibenden Funktionsleistung der Erythropoese in der Bildung fetalen Hämoglobins. Die Blutuntersuchungen an gesunden Kindern und Erwachsenen unterstreichen die Annahme, daß der menschliche Organismus die Fähigkeit behält, fetales Hämoglobin bis ins hohe Lebensalter zu bilden. ZILLESEN (116) bewies anhand seiner Untersuchungen an gesunden Kindern mit der Cyanhämiglobin-Fällungsmethode, daß mindestens bis in das 4. Lebensjahr fetales Hämoglobin vorhanden ist. CHERNOFF (30, 31) unter-

suchte mit einem sehr genauen serologischen Verfahren das Blut von 100 gesunden Erwachsenen auf den HbF-Gehalt. Interessanterweise wurden in jeder Blutprobe noch geringe Mengen fetalen Hämoglobins nachgewiesen. Ebenfalls fanden ROCHE u. Mitarbeiter (91) mit der fraktionierten Salzfällung während des ganzen Erwachsenenalters fetalen Blutfarbstoff.

LEHMANN (76) vertritt den Standpunkt, daß fetales Hämoglobin bis ins hohe Alter nur bei den Menschen beobachtet wird, die seit der Kindheit eine Störung in der Erythropoese, d.h. eine nicht ausreichende Bildung von Erwachsenen-Hämoglobin aufweisen. Gegen diese Theorie spricht aber der Nachweis fetalen Hämoglobins bei Patienten, die erst im Erwachsenenalter Blutkrankheiten erwarben (SINGER, CHERNOFF u. SINGER (97), KÜNZER (67), COOK, BRODIE and ALLEN (34).

Über die funktionelle Bedeutung des fetalen Hämoglobins kann heute noch nichts Definitives ausgesagt werden. Anfangs war man der Ansicht, daß die erhöhte Sauerstoffbindungsfähigkeit des Neugeborenen eine Funktion des fetalen Hämoglobins darstellte. Die Untersuchungen von HAUROWITZ (51) haben jedoch ergeben, daß bei reinen fetalen und Erwachsenen-Blutfarbstofflösungen die Sauerstoffdissoziationskurve von HbF mit der des HbA zusammenfällt bzw. noch etwas nach rechts verlagert ist. In diesem Zusammenhang konnte BETKE (15) bei cyanotischen Kindern mit einem angeborenen Herzfehler nachweisen, daß trotz des hierdurch bedingten dauernden Sauerstoffdefizits das fetale Hämoglobin weder langsamer noch schneller als bei normalen Kindern

abgebaut wird. Auch für erworbene Blutkrankheiten machte NATZSCHKA (85) geltend, daß keine Beziehungen zwischen dem Anämisierungsgrad und der Menge des produzierten fetalen Hämoglobins bestehen. Die Anteile des fetalen Hb am Gesamthämoglobin sind gewöhnlich sehr gering, doch fand RICH (89) bei der Cooley-Anämie älterer Kinder und Erwachsener einen HbF-Gehalt von nahezu 100 %. Er erklärt hier den abnorm hohen fetalen Hämoglobingehalt des Blutes damit, daß die Bildung von Erwachsenen-Hb stark gehemmt wird, und es dafür zu einer Weiterbildung von fetalem Hämoglobin kommt (14, 77).

Die Ursache der verminderten Methämoglobinreduktion in Neugeborenen-Erythrocyten war lange Zeit ungeklärt. In der 1962 erschienenen Arbeit von BETKE (16) wird dargelegt, daß die außerordentlich hohe Empfindlichkeit junger Säuglinge gegenüber Methämoglobinbildnern einerseits zurückzuführen ist auf eine gesteigerte Oxydierbarkeit des fetalen Hämoglobins zum Erwachsenen-Hb. Andererseits kommt eine verminderte Aktivität des zellulären enzymatischen Prozesses, der Methämoglobin bildet, in Betracht. BETKE (16) konnte in vitro belegen, daß das den Wasserstoff übertragende Ferment, die Diaphorase, vermindert ist. Trotz dieser beiden Kriterien - erhöhte Oxydierbarkeit des HbF und verminderte Aktivität des zellulären enzymatischen Prozesses - wird bei Neugeborenen nicht anders als bei Erwachsenen in ihrem Blut ein Methämoglobinspiegel unter 1 % nachgewiesen.

IV. Zusammenfassung

Die Bestimmung des fetalen Hämoglobins im Nabelschnurvenenblut und im Kopfvenenblut von 13 Neugeborenen führten wir mit der modifizierten Cyanhämiglobin-Fällungsmethode nach KÜNZER aus.

Hierbei zeigten die prozentualen Werte des fetalen Hämoglobins in den ersten sechs Tagen nach der Geburt im Durchschnitt ein Absinken um ca. 7 % (67,5 % HbF zu 60,1 % HbF). Der Abfall des HbF-Anteils in den ersten 24 Stunden war größer als an jedem der nachfolgenden fünf Tage.

Die Untersuchungsergebnisse werden diskutiert.

V. Literaturangaben

1. BAAR, H.S. : Nature (Lond.) 162, 191 (1948)

2. BARCROFT, J. : Lancet 1933 II 1021

3. BARCROFT, J. : Blackwell scientif.Publ. Oxforf 1946

4. BEAVEN, G.H., H.HOCH and E.R. HOLIDAY : Biochemic. J. 49, 374 (1951) zit. bei Nr. 12

5. BEAVEN, G.H. and J.C. WHITE : Nature (Lond.) 172, 1006 (1953) zit. bei Nr. 67

6. BERLINER, G. : Untersuchungen zum Hämoglobinstoffwechsel bei der Frühgeborenenanämie. Diss. Berlin (1956)

7. BETKE, K. : Biochem.Z. 321, 271 (1951)

8. BETKE, K. : Biochem.Z. 322, 186 (1951)

9. BETKE, K. : Mschr.Kinderheilk. 100, 143 (1952)

10. BETKE, K. : Z. Kinderheilk. 74, 85 (1953)

11. BETKE, K. : Klin.Wschr. 31, 557 (1953)

12. BETKE, K. : 'Der menschliche rote Blutfarbstoff bei Fetus und reifem Organismus', Springer-Verlag (1954)

13. BETKE, K. : Klin.Wschr. 34, 113 (1956)

14. BETKE, K. : Schwz.Med.Wschr. 88, 1005 (1958)

15. BETKE, K. : Ergebn.d.inn.Med.u.Kinderheilk. 9, 437 (1958)

16. BETKE, K. : Dtsch.med.Wschr.87, 909 (1962)

17. BETKE, K. u. I.GREINACHER : Z.Kinderheilk. 75, 235 (1954)

18. BETKE, K. u. E. KLEIHAUER : Blut (München) 4, 5 (1958)

19. BETKE, K. u. W. SAVELSBERG : Biochem.Z. 320, 431 (1950)

20. BILLING, B.H.,P.G.COLE and G.H. LATHE : Brit.Med.J. 1954 II 1263 zit, bei Nr. 111

21. BISCHOFF, H. : Med.Klin. 21, 1394 (1925)

22. BISCHOFF, H. : Mschr.Kinderheilk. 31, 228 (1926) zit. bei Nr. 12

23. BLACKFAN, K.D. and L.K. DIAMOND : Atlas of the blood in children (New York) Commonwealth fond (1944)

24. BRINKMAN, R. and J.H.P.JONXIS : J.of Physiol. 85, 117 (1935)

25. BRINKMAN, R. and J.H.P. JONXIS : J.of Physiol. 88, 162 (1937)

26. BROMAN, J. : 'Grundriß d. Entwicklungsgeschichte d. Menschen', J.I.Bergmann (1921)

27. BUTTERFIELD,E.E. : Z. physiol. Chem. 62, 173 (1909)

28. CHARNASS, D. : Abderhaldens Handbuch d.biolog.Arbeitsmeth. Abt. 4, Teil 4, 1109 (1927) zit. bei Nr. 12

29. CHERNOFF, A.I. and K.SINGER : Pediatrics 9, 469 (1952)

30. CHERNOFF, A.I. : Blood 8, 399 (1953)

31. CHERNOFF, A.I. : Blood 8, 413 (1953)

32. CHOREMIS, C., L. ZANNOS and C. DENDAKI : J.Clin.Path. 7, 209 (1954)

33. COMLY, H.H. : J.Amer.Med.Assoc. 129, 112 (1945) zit. bei Nr.12

34. COOK, Ch.D., H.R.BRODIE and D.W.ALLEN : Pediatrics 20, 2 (1957)

35. CUTILLO, S. : Boll.Soc.ital. Biol. sper. 28, 130(1952) zit. bei Nr.12

36. DARROW, R.R., S.NOWAKOVSKY and M.H. AUTIN: Arch.of Path. 30, 873 (1940) zit. bei Nr.12

37. DELORY, G.E., L.G. ISRAELS and F.D. WHITE : Canad. J. Res. (Sect. E) 28, 238 (1950)

38. DRESCHER, H. u. W. KÜNZER : Klin. Wschr. 32, 92 (1954)

39. DRUCKREY, H. u. F. LINNEWEH : Arch. Toxikol. 11, 37 (1940

40. DUTTON, G.J. : Biochem.J. 71, 141 (1959a) zit. bei Nr. 111

41. FOWLER, R.S. : Amer.J.Dis.Childr. 91, 245 (1956)

42. FUNKE, O. : Z.ration.Med. N.F. 2, 198 (1852) zit. bei Nr.12

43. FUNKE, O. : J.prakt.Chem. 56, 193 (1852) zit. bei Nr.12

44. FUNKE, O. : Z.ration. Med. N.F. 2, 288 (1852) zit. bei Nr. 12

45. GREINACHER,I. : Mschr.Kinderheilk. 102,(522 (1954)

46. GREINACHER, I., E.GREINACHER u. K. BETKE : Naturwiss. 40, 588 (1953)

47. GUNTHER, M. : Lancet 1957 I, 1277

48. HALBRECHT, I.and C.KLIBANSKI : Nature (London) 178, 794 (1956)

49. HASELHORST,G. u. A. ALLMELING : Z. Geburtsh. 98, 103 (1930)

50. HAUROWITZ, F. : Z.physiol.Chem. 186, 141 (1930) zit, bei Nr. 12

51. HAUROWITZ, F. : Z.physiol.Chem. 232, 125 (1935)

52. JONXIS, J.H.P.: Mschr. Kindergeneesk. 6, 356 (1937) zit. bei Nr. 12

53. JONXIS, J.H.P.: Biochem. J. 33, 1743 (1939)

54. JONXIS, J.H.P.: "Haemoglobin"-Symposium. London: Butterworth's Sci. Publ. 1949

55. JONXIS, J.H.P. and H. HUISMAN : Blood 11, 1009 (1956)

56. JOPE, H.M. and J.R.P. O'Brien: "Haemoglobin"-Symposium. London: Butterworth's Sci.Publ. 1949

57. KLEIHAUER, E., H. BRAUN u. K.BETKE : Klin. Wschr. 35, 637 (1957)

58. KLEINKNECHT,R.: Mschr. Kinderheilk. 101, 360 (1953) zit. bei Nr. 12

59. KNOLL, W. : Ber.St.Gall.Natur.Ges.73 (1950)

60. KÖRBER, E. : Diss.Dorpat (1866) - Zbl.med.Wiss.117 (1867) zit. bei Nr. 12

61. v.KRÜGER,F. : Z.Biol. N.F. 6, 318 (1888) zit. bei Nr. 12

62. KÜNZER, W. : Klin. Wschr. 61 (1951)

63. KÜNZER, W. : Mschr. Kinderheilk. 100 149 (1952)

64. KÜNZER, W. : Klin.Wschr. 31, 585 (1953)

65. KÜNZER, W. : Z. Kinderheilk. 73, 265 (1953)

66. KÜNZER, W. : Mschr. Kinderheilk. 102, 89 (1954)

67. KÜNZER, W. : Z. Kinderheilk. 76, 58 (1955)

68. KÜNZER, W. : Z. Kinderheilk. 77, 249 (1955)

69. KÜNZER, W. : Klin. Wschr. 35, 940 (1957)

70. KÜNZER, W. u. H.DRESCHER : Klin. Wschr. 34, 918 (1956)

71. KÜNZER, W. u. W. SAVELSBERG: Klin. Wschr. 29, 648 (1951)

72. KÜSTER, F. : Z.Kinderheilk. 65, 591 (1948)

73. KUNDE, F. : Z.ration.Med. N.F. 2, 271 (1852) zit. bei Nr. 12

74. LANGLEY, F.A. : Arch. Dis. Childr. 26, 64 (1951)

75. LATHE, G.H. : Lancet 1956 II, 683

76. LEHMANN, H. : Brit. Medical Bulletin 15, 1 (1959)

77. LIQUORI, A.M. : Nature (Lond.) 167, 950 (1951)

78. MARSH,R.B. De, W.F. WINDLE and A.L. ALT : Amer. J.Dis. Childr. 63, 1123 (1942)

79. MARSH,R.B. De, W.F. WINDLE and A.L. ALT : Proc.Soc.Exper.Biol.a.Med. 44, 662 (1946)

80. MARTISCHNIG, E. u. O.THALHAMMER : Klin.Med. (Wien) 6, 536 (1951)

81. MASING, E. : Dtsch.Arch.klin.Med. 98, 122 (1910) zit. bei Nr. 12

82. MAXIMOW, A. : Handbuch d.mikr.Anat.d.Menschen v.Möllendorff, Springer-Verlag (1927)

83. MELCOP, H.J. : Hämiglobinbestand und Hämiglobinbildung bei jungen Säuglingen und ihre Abhängigkeit vom fetalen Hämoglobin. Diss. Freiburg (1954)

84. MUNDORFF, H. Z.mikrosk.-Anat.Forsch. 9, 468 (1927)

85. NATZSCHKA, K. Untersuchungen zur Bildung von fetalem Hämoglobin nach der Geburt. Diss. Berlin (1957)

86. NICLOUX, M. : Bull.Soc. Chim.biol. (Paris) 1, 114 (1919) zit. bei Nr. 12

87. PETERS, R.A. : J. of Physiol. 44, 131 (1912) zit. bei Nr. 12

88. PONDER, E. and Ph. LEVINE : Blood 4, 1264 (1949)

89) RICH, A. : Proc.Nat. Acad. Sci. USA 38, 187 (1952) zit. bei Nr. 12

90. Ritter, H.: Mschr.Kinderheilk. 96, 319 (1949 zit. bei Nr.12

91. ROCHE, J. et Y.DERRIEN : Sang. 24, 97 (1953) zit. bei Nr.12

92. ROCHE, J., Y.DERRIEN et M.ROQUES : Bull.Soc. Chim. biol. (Paris) 35, 933 (1953)

93. ROE, H.E.: J.Amer. Med. Assoc. 101, 352 (1933)

94. ROHRBACH,F.: Österr. Z.Kinderheilk. 2, 296 (1949)

95. SANSONE, G. et F.CUSMANO: Boll. Soc. ital. Biol. sper. 26, Fasc. 8,1 (1950) zit. bei Nr.12

96. SCHMID, R. : Schweiz. Med.Wschr. 775 (1956)

97. SINGER, K., A.I. CHERNOFF and L.SINGER : Blood 6, 413 (1951)

98. SINGER, K., A.I.CHERNOFF and L.SINGER : Blood 6, 429 (1951)

99. SINGER, K., and A.I.CHERNOFF : Blood 7, 47 (1952)

100. SINGER, K. and B.FISHER : Blood 7, 1216 (1952)

101. SINGER, K. and B.FISHER : Blood 8, 270 (1953)

102. TALAFANT, E. : Nature (London) 178, 312 (1956)

103. THOENES, W. : Virchows Arch. 328, 220 (1956)

104. TROUGHT, H. : Arch. Dis.Childr. 7, 259 (1932) zit. bei Nr.12

105. VALER, J. : Biochem. Z. 190, 444 (1927) zit. bei Nr. 12

106. WAKULENKO, J.L.: Arbeiten aus dem med.-chem. Laboratorium der Universität Tomsk 2,1 (1910) zit. bei Nr.112

107. WALKER, J. and E.P.N.TURNBULL: Lancet 1953 II, 312 zit. bei Nr.15

108. WALKER, J. and E.P.N.TURNBULL: Arch.Dis.Childh. 30,III (1955) zit. bei Nr. 15

109. WALLACE, W. : J.Amer.Med.Assoc. 133, 1280 (1947

110. WARNINGHOFF, G. u. K.HAUSMANN: Acta Haematol. (Basel) 14, 273 (1955)

111. WOERPEL, Th. : Med. Klinik (1925) II, 1610

112. WUNDT, N. : Z. Kinderheilk. 43, 297 (1927

113. ZANNOS, L. : Acta paediatr. (Stockholm) 42, 305(1953)

114. ZEISEL, H. : Z. Kinderheilk. 70,190 (1951)

115. v. ZEYNEK, R. : Z. physiol. Chem. 33, 426 (1901)
zit. bei Nr. 12

116. ZILLESEN, H.-G. : Über das Auftreten von fetalem Hämoglobin bei Kleinkindern und Schulkindern.
Diss. Berlin (1960)

Herrn Prof. Dr. med. H. WIESENER danke ich herzlich für seine freundliche und hilfreiche Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Dr. K. FREUDENBERG bin ich für seine freundliche Hilfe bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse zu Dank verpflichtet.

L E B E N S L A U F

Am 26. Mai 1933 bin ich, Jürgen J ü r g e n s , als Sohn des selbständigen Kaufmanns Ferdinand Jürgens und seiner Ehefrau Margot Jürgens geb. Reibedanz in Berlin geboren.

Im Jahre 1939 wurde ich in Berlin eingeschult und erhielt im Jahre 1953 an der Eckener-Schule, Berlin-Tempelhof, das Reifezeugnis.

Anschliessend begann ich mein Medizinstudium an der Universität Basel. Vom 2. Semester an setzte ich mein Studium an der Freien Universität Berlin fort. Im Jahre 1955 legte ich die ärztliche Vorprüfung und im Jahre 1959 das medizinische Staatsexamen an der Freien Universität Berlin ab.

Für die Dauer eines Jahres nahm ich bis zum Mai 1960 an dem Austauschprogramm der Ventnor Foundation teil und arbeitete als rotating intern in Paterson, N.J., U.S.A.

Meine Medizinalassistentenzeit beendete ich in Berlin im Rudolf Virchow - Krankenhaus und im St. Gertrauden-Krankenhaus. 1961 erhielt ich die Approbation als Arzt. Anschliessend war ich ein Jahr auf der Infektionsabteilung, eineinhalb Jahre im Pathologischen Institut und für ein weiteres Jahr auf der Chirurgischen Abteilung des Rudolf Virchow-Krankenhauses tätig.

Seit dem 1.April 1965 bin ich Assistenzarzt an der Orthopädischen Universitätsklinik im Oskar-Helene-Heim.

Die vorliegende Doktorarbeit wurde 1961 abgeschlossen. Sie konnte wegen einer chronischen Erkrankung erst jetzt eingereicht werden.